ＡＴＰ測定による根管の清浄度評価について 第２報

錦織直哉 高木秀介 楠高伸* 西野博喜** 椎野広巳*
初谷宏一***
神奈川県開業,*千葉県開業,**埼玉県開業,***東京都開業

The second report about cleanliness evaluation of the root canal by ATP measurement

Naoya NISHIKIORI,Shuusuke TAKAGI,Takanobu KUSUNOKI*,Hiroki NISHINO**,
Hiromi SHIINO*and Hirokazu HATSUYA***
Kanagawa,*Chiba,**Saitama,***Tokyo

Abstract:The bioluminescence is well known and the glow of afirefly is most especially studied in detai1.Samples are added to the reaction system and the concentration of ATP(adenosine triphosphate)can be measured by the quantity of luminescence.

ATP is concerned with microbial metabolism such as bacteria and fungi,The measurement of quantity of ATP has significance same as a test which indicates the sanitation of the root canal can be possible without culture test.

The aim of this study is to know how clean the infected root canal is,measuring the quantity of ATP obtained from the root canal.The relative light unit(RLU)value of samples from the root canals indicates higher in the Class l which exists intensely the clinical symptoms of the apical periodontitis and lower in the Class 3 which exists symptomless.With the progress of the endodontic treatment,the RLU value decreases in most cases.

The cleanliness of the root canal can be found from the quantity of ATP obtained from the rootcanal.By the change of the quantity,the optimal time for the root canal obturation can be determined objectively.

Keywords:luciferase,ATP,microbial test,root canal obturation

(日歯内療誌 21(1):23～26,2000)

はじめに

根管の汚染状況を評価するため細菌培養試験が従来より行われてきた.しかしこの検査には数日間という時間を要するうえ,微生物の数を数億倍に増殖させて肉眼的に確認する必要があり診療環境の汚染も危倶される.また無菌判定の問題点も指摘されており 1),われわれは培養試験に代わる安全な細菌検査について模索していたところ,この方法に出会い本研究に至ることとなった.

食品製造の分野では HACCP の導入により,迅速な細菌検査が要求されてきている.細菌を汚染指標とするのではなく,ATP(adenosine triphosphate)を汚染指標として捉えることで微生物を培養することなく,その要求に適合した検査が可能になる 2・3).

そこで ATP 測定による衛生検査システムを感染した根管の清浄度の評価に応用した.その結果,この検査により根管の汚染状況をリアルタイムに把握でき,根管充填の時期をより客観的に診断できることが判ったので,本報では測定結果からみた考察を行う.

方　法

ATP 測定の原理,ATP 測定機器および関連器材については第 1 報 4)で報告したとおりである.

対象とした患者は本研究の目的を説明し同意を得た 26 名の成人で,各種防湿手段により唾液や血液の根管への混入が排除できると判断された 37 歯の測定を行った.根尖性歯周炎の診断は臨床症状に基づいた分類 5)を採用した(表 1).

表 1 臨床症状に基づいた根尖性歯周炎の分類

症例	自発痛	打診痛	浸出液
Class1	＋	＋	＋
Class2	－	－	(＋)
Class3	－	－	－

Class1:自発痛を伴う症例

Class2:自発痛を伴わないが,打診痛,根尖部の圧痛などの臨床症状が認められる症例

Class3:自発痛,打診痛,根尖部の圧痛などの臨床症状が全く認められない症例

複数の根管を有する歯牙では,臨床症状や根尖病巣の程度および根管拡大時の所見から最も汚染が著しいと考えられる特定の 1 根管を測定の対象とした.

試料の採取は根管形成・根管洗浄・根管の吸引乾燥に続いて,滅菌ペーパーポイントを(根管壁を螺旋状に拭いながら)根尖まで挿入し 30 秒間静置した後,根管から取り出し LOmZ の蒸留水に投入し試料液を調製した.

試料液の調製,測定の方法を図 1 に示す.試料液の RelativeLightUnit(RLU)値とコントロールの RLU 値の差を測定毎に比較し根管の清浄度を評価した.初回の根管拡大後と根管充填直前の測定を含めた少なくとも 2 回から 4 回の測定を行い,歯内療法の進行に伴う RLU 値の推移を評価した.

結　果

試料の測定値からコントロールの測定値を減じた値をペーパーポイントに吸着した真の RLU 値とし,歯内療法の進行に伴う値の推移をグラフに示す(図 2～4).自発痛が存在する Class1 の症例では 1 回目の測定において数百から数十万 RLU と高い値が示され,この値は歯内療法の進行に伴い急激に減少し,6 歯中 5 歯で根管充填直前の RLU 値は 1 桁まで低下した.

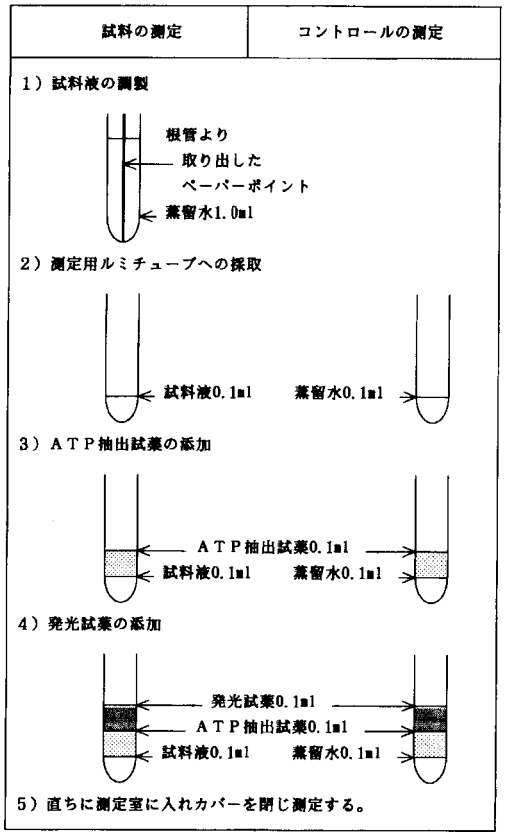

図 1 試料およびコントロールの調整から測定までの手順

Class2 の症例では,1 回目の測定において数十から数千 RLU と中間的な値であり,1 例において治療期間中の急性発作から一時的に値が高くなったものの 19 歯中 14 歯で根管充填直前の値は 1 桁まで低下した.また,1 例では 100RLU 前後の値が度重なる根管治療によっても低下する傾向にはなかった.

Class3 の症例では,1 回目の測定においてすべての被験歯が 100RLU 以下と低い値であった.

考　察

本研究に使用した ATP 測定による衛生検査システムの取扱説明書によると,コントロール値をブランク値と表現し測定してはいるが,ブランク値は蒸留水もしくは測定試薬自体の汚染の有無を確認する程度に止まっている.しかし,根管から得られた RLU 値は 1 回目の根管拡大が完了した時点で(すでに拡大清掃が完了している場合もあるが…)Class2,Class3 の症例ではその大半が数十から数百 RLU 程度であり,その値が機械的および化学的な根管の拡大清掃,根管充填のための便宜形態の付与といった根管形成を進めるにつれてコントロールに近い値まで低下することが判明した.このように非常に小さいレンジでの評価を行うためには,検査毎にコントロールを測定し根管から採取した試料の測定値からコントロール値を減じた値をペーパーポイントに吸着した「真の RLU 値=ATP 量」として評価する必要があり,これにより計測限界下限付近での精度が増すものと考えられる.

試料採取の方法については,超純水を満たした根管にペーパーポイントを挿入し液体の試料を吸着採取する方法が小森らにより報告されている 6)が,本研究では根管形成に伴う ATP 量の推移を調査する目的から,使用するペーパーポイントのサイズが根管の機械的拡大により変化するため,液体を吸着させる方法ではペーパーポイントのサイズによって吸収量に差が生じ同一根管における測定値の信頼性が失われてしまうことから前述の方法を採用した.

測定結果から考察すると,Class1 の症例では 1 回目の測定において数百から数十万 RLU と高い値が示されたこの ATP の一部は微生物に由来し,大部分は浸出液に含まれる炎症性細胞に由来することが推測され

る.そしてこの高い値は治療の進行に伴い急激に減少し,6 歯中 5 歯で根管充填直前の RLU 値は 1 桁まで低下した.

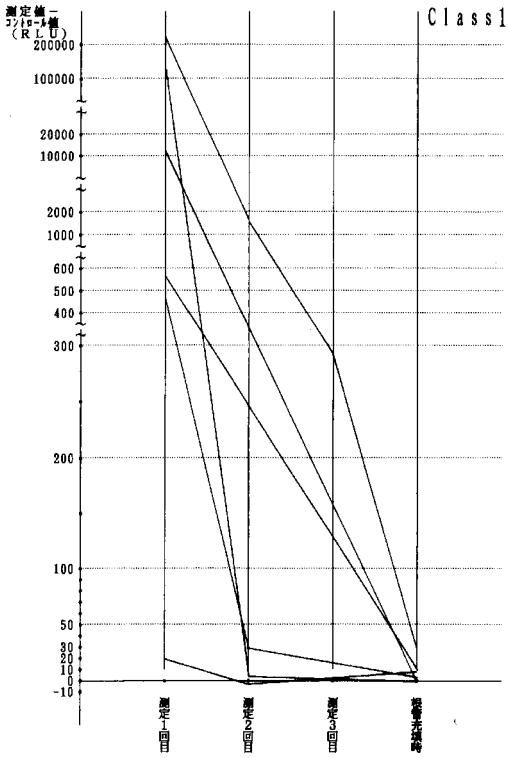

図 2 Class1: 6 歯における歯内療法に伴う RLU 値の推移

Class2 の症例では,1 回目の測定において数十から数千 RLU と中間的な値であり,1 例において治療期間内の急性発作から一時的に値が高くなったものの 19 歯中 14 歯で根管充填直前の値は 1 桁まで低下した.また,拇指頭大の歯根嚢胞を有する 1 例では 100RLU 前後の値が度重なる根管治療によっても低下する傾向にはなく,このような症例は予後に不安を抱える例であり,外科的処置の必要性もが示唆された.Class2 の症例は感染を起こしていた時間的経緯にも差があり,多様な病態をも内在していることから ATP 測定による迅速な検査でスクリーニングし,いわゆる普通の根管治療で治癒が期待できるかどうかの判断も可能になる.

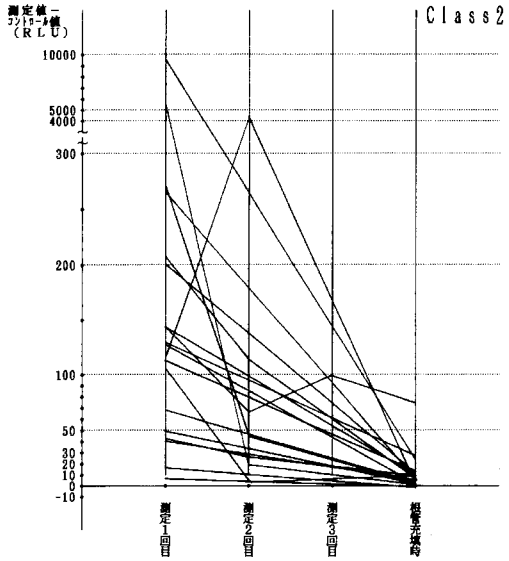

図 3 Class2: 1 9 歯における歯内療法に伴う RLU 値の推移

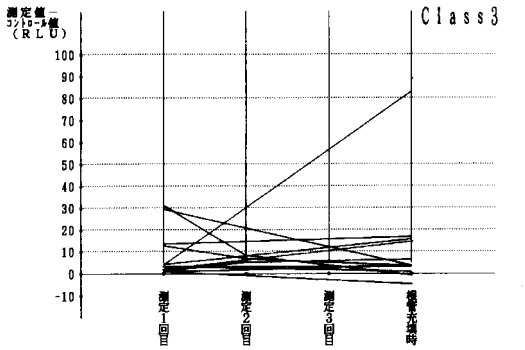

図 4 Class3: 1 2 歯における歯内療法に伴う RLU 値の推移

Class3 の症例では,1 回目の測定において全てが 100RLU 以下と低い値であったが,歯内療法の治療期間中に 12 歯中 6 歯で値が若干上昇する傾向があることも判った.この値の上昇は測定機器の暗雑音(50RLU)の範囲内であるため計測誤差と考えることもできるが,以下の 3 つの要因もあげられる.まず第 1 に作業長まで正確にペーパーポイントを挿入するのは容易ではなく,根管形

成が進行するにつれ根尖孔が機械的に拡大され,試料採取の際にペーパーポイントを根尖孔外にオーバーインスツルメンテーションさせてしまった可能性が考えられる.2番目の要因としては,根尖付近に存在した細菌塊内部の細菌を 1 回目の測定で検出できなかった試料採取における偽陰性が考えられる.さらに歯内療法の期間中歯牙は,仮封もしくはテンポラリークラウンを装着してあるものの,唾液といういわば菌液に常時浸され,咀嚼およびサーマルサイクルを繰り返された結果,仮封材または仮着材と残存歯質との間で漏洩が起こり,微生物が根管に侵入してきた要因も考えられる.これに対しては感染根管即日根管充填の必要性もが示唆され,今後に課題を残す結果となったが,日常生活の手洗いレベルの手指で滅菌ペーパーポイントを数回触れた場合のペーパーポイントの測定値は,本法で534RLU であったことも書き添えたい.

培養試験で前回採取した試料が数日後に無菌と判定されたとしても,その後根管充填までの間に漏洩が起きたかどうかは判らないままであろう.われわれは培養検査を否定しているわけではなく,一部の症例では嫌気培養による細菌検査を併用し原因菌の同定を行う必要があると考えている.しかし根管を完全な無菌状態にするためには,一度歯を抜歯してオートクレーブで滅菌する以外に方法はなく,「根管を可及的に清潔にする」ことが現実的に可能な治療行為である.ペーパーポイントにより吸着採取される ATP 量は大多数の症例で,通常の歯内療法を行うことにより減少した.ATP 量の減少は根管を清潔にできたことを示すと共に,浸出液が存在しないことをも意味する.完全な無菌状態を証明できるわけではないが,ATP 量の推移は根管充填の時期を決定するうえでの客観的な情報となり,可及的に清潔にした根管にタンニンを併用し根管充填する 7)ことが,現時点での最善の方法であるとわれわれは考え,実践している.タンニンの蛋白凝固作用による象牙質コラーゲンの固定に加え殺菌性に関しても現在研究中であり,この作用により良好な予後が期待できると考えている.根管の清浄度を評価するための ATP 測定による研究はまだ少なく,独創的な研究報告ではあるが,蛍の光がエンドの将来を明るく
照らし出すことを祈念しつつ結びとする.

ま と め

感染した根管から採取した試料の ATP 量を測定することで根管の状況をリアルタイムに評価でき,その量の推移により根管充填の時期を客観的に診断できる.さらに ATP 測定による細菌検査は微生物を数億倍に増殖させる必要がなく,バイオハザードの面からも診療環境を安全に保て,きわめて臨床医に適した方法である.根管治療の期間内で仮封材の漏洩などの問題が見出したことから解決しなければならない課題は多く,今後さらなる研究が期待される.

文　献

1)初谷宏一:清潔な根管を求めて.日歯内療誌,20:58,1999.
2)本間茂:清浄度管理指標としての ATP の利用.食品と開発,31:22～25,1995.
3)本間茂:HACCP における ATP 利用技術の

将来性.食品と開発,32:7〜10,1997.
4)錦織直哉,高木秀介,楠高伸,西野博喜,椎野広巳,初谷宏一:ATP 測定による根管の清浄度評価について第 1 報.日歯内療誌,20:98〜102,1999.
5)福島久典:細菌学からみたエンドの常識,日歯医師会誌,51:17〜26,1998.
6)小森規雄,冨田毅,荻原浩樹,小谷一央,明石俊和,目澤修二,斉藤毅:ルシフェラーゼによる根管清掃評価法に関する研究.日歯保存誌,41:389〜393,1998.
7)初谷宏一,楠高伸,西野博喜,柳田哲郎,椎野広巳:根充材としてのタンニン化合物について.日歯内療誌 18:61〜68,1997.

連絡先：錦織直哉
錦織歯科医院
〒259-0314 足柄下郡湯河原町宮上 446-6